

**Claims**

1. Use of a degradation product of Human Serum Albumin as a marker for cancer.
- 5 2. Use according to claim 1, wherein the degradation product is selected from the group consisting of the polypeptides having apparent molecular weight of 60500 Da, 6187 Da, 6090 Da, 5920 Da, 5906 Da, 5901 Da, 5900 Da, 5333 Da, 2363 Da, and 1687 Da.
3. Use of at least one polypeptide having an apparent molecular weight of 6187 Da, 5901  
10 Da or 5333 Da as a marker for cancer.
4. Use according to claim 3, wherein one of the polypeptides is  $\alpha$ -fibrinogen protein.
5. Use according to any of claims 1-4, wherein the cancer is colorectal cancer.  
15
6. Use of at least one marker selected from the group consisting of the polypeptides having apparent molecular weights of  
20 66800 Da, 66500 Da, 66300 Da, 64860 Da, 60730 Da, 60500 Da, 60475 Da, 46000 Da, 45500 Da, 44300 Da, 33000 Da, 28040 Da, 28025 Da, 28010 Da, 28000 Da, 27700 Da, 19966 Da, 19900 Da, 19865 Da, 16150 Da, 15935 Da, 15580 Da, 15200 Da, 15140 Da, 14470 Da, 14300 Da, 14100 Da, 14030 Da, 13870 Da, 13747 Da, 11723 Da, 13700 Da, 13331 Da, 13265 Da, 12000 Da, 11989 Da, 11987 Da, 11900 Da, 11700 Da,  
25 11650 Da, 11550 Da, 11500 Da, 11133 Da, 11080 Da, 10830 Da, 9950 Da, 9700 Da, 9600 Da, 9197 Da, 9140 Da, 9090 Da, 9079 Da, 8971 Da, 8940 Da, 8931 Da, 8930 Da, 8652 Da, 8580 Da, 8230 Da, 7469 Da, 7324 Da, 7023 Da, 6880 Da, 6850 Da, 6660 Da, 6650 Da, 6635 Da, 6450 Da, 6436 Da, 6435 Da, 6430 Da, 6125 Da, 6110 Da, 6090 Da, 5920 Da, 5906 Da, 5905 Da, 5900 Da, 5871 Da, 5857 Da, 5540 Da, 5360 Da, 5330 Da, 5266 Da, 5260 Da, 5234 Da, 5075 Da, 4977 Da, 4749 Da, 4660 Da, 4640 Da, 4634 Da, 4500 Da, 4480 Da, 4460 Da, 4330 Da, 4300 Da, 4290 Da, 4281 Da, 4270 Da, 4266 Da, 4264 Da, 4168 Da, 4136 Da, 4039 Da, 4024 Da, 4000 Da, 3984 Da, 3980 Da, 3960 Da, 3895 Da, 3882 Da, 3878 Da, 3816 Da, 3777 Da, 3712 Da, 3680 Da, 3651 Da, 3574 Da, 3570 Da (def 2), 3487 Da, 3480 Da (def 3), 3450 Da (def 1), 3444 Da, 3408 Da, 3372 Da, 3280, 3275 Da, 3160 Da, 2960 Da, 2955 Da, 2933 Da, 2878 Da, 2850 Da, 2840 Da, 2799 Da, 2693 Da, 2462 Da, 2450 Da, 2364 Da, 2330 Da, 2275  
30  
35

Da, 2230 Da, 2210 Da, 1945 Da, 1930 Da, 1688 Da, 1536 Da, 1365 Da,  
1256 Da, 1042 Da, 1026 Da, and 1005 Da,

for the prediction of the clinical outcome, complications and mortality of an individual  
5 diagnosed with colorectal cancer.

7. A method of diagnosing colorectal cancer in a sample from a mammal, the method  
comprising

10 obtaining a sample from said mammal

assaying said sample by a quantitative detection assay and determining the  
intensity signal of at least one marker selected from the group consisting of the  
polypeptides having apparent molecular weights of

15

20

25

30

35

66800 Da, 66500 Da, 66300 Da, 64860 Da, 60730 Da, 60500 Da, 60475  
Da, 46000 Da, 45500 Da, 44300 Da, 33000 Da, 28040 Da, 28025 Da,  
28010 Da, 28000 Da, 27700 Da, 19966 Da, 19900 Da, 19865 Da, 16150  
Da, 15935 Da, 15580 Da, 15200 Da, 15140 Da, 14470 Da, 14300 Da,  
14100 Da, 14030 Da, 13870 Da, 13747 Da, 11723 Da, 13700 Da, 13331  
Da, 13265 Da, 12000 Da, 11989 Da, 11987 Da, 11900 Da, 11700 Da,  
11650 Da, 11550 Da, 11500 Da, 11133 Da, 11080 Da, 10830 Da, 9950 Da,  
9700 Da, 9600 Da, 9197 Da, 9140 Da, 9090 Da, 9079 Da, 8971 Da, 8940  
Da, 8931 Da, 8930 Da, 8652 Da, 8580 Da, 8230 Da, 7469 Da, 7324 Da,  
7023 Da, 6880 Da, 6850 Da, 6660 Da, 6650 Da, 6635 Da, 6450 Da, 6436  
Da, 6435 Da, 6430 Da, 6125 Da, 6110 Da, 6090 Da, 5920 Da, 5906 Da,  
5905 Da, 5900 Da, 5871 Da, 5857 Da, 5540 Da, 5360 Da, 5330 Da, 5266  
Da, 5260 Da, 5234 Da, 5075 Da, 4977 Da, 4749 Da, 4660 Da, 4640 Da,  
4634 Da, 4500 Da, 4480 Da, 4460 Da, 4330 Da, 4300 Da, 4290 Da, 4281  
Da, 4270 Da, 4266 Da, 4264 Da, 4168 Da, 4136 Da, 4039 Da, 4024 Da,  
4000 Da, 3984 Da, 3980 Da, 3960 Da, 3895 Da, 3882 Da, 3878 Da, 3816  
Da, 3777 Da, 3712 Da, 3680 Da, 3651 Da, 3574 Da, 3570 Da (def 2), 3487  
Da, 3480 Da (def 3), 3450 Da (def 1), 3444 Da, 3408 Da, 3372 Da, 3280,  
3275 Da, Da, 3160, Da, 2960 Da, 2955 Da, 2933 Da, 2878 Da, 2850 Da,  
2840 Da, 2799 Da, 2693 Da, 2462 Da, 2450 Da, 2364 Da, 2330 Da, 2275  
Da, 2230 Da, 2210 Da, 1945 Da, 1930 Da, 1688 Da, 1536 Da, 1365 Da,  
1256 Da, 1042 Da, 1026 Da, and 1005 Da,

comparing said intensity signal(s) with reference value(s)

identifying whether the intensity signal of at least one marker from the sample is significantly different from the reference value.

5

8. A method according to claim 7, wherein the reference value(s) is/are intensity signal value(s) calculated from data of said marker(s) obtained from a sample without colorectal cancer from the same mammal.

10 9. A method according to claim 7 or 8, wherein the reference value(s) is/are intensity signal value(s) calculated from data of said marker(s) obtained from samples from at least one normal mammal.

10. A method according to any of claims 7-9, wherein the quantitative detection assay is  
15 selected from the group consisting of immunoassay, kinetic/real-time PCR, 2D gel, protein array, gene array and other nano-technology methods.

11. A method according to any of claims 7-10, wherein the signal is selected from the group consisting of fluorescence signal, mass spectrometry images, radioactivity and  
20 enzyme activity.

12. A method according to any of claims 7-11, wherein the intensity signal for at least one of the markers 60500 Da, 60730 Da, 60475 Da, 33000 Da, 19966 Da, 19900 Da, 19865 Da, 11900 Da, 16150 Da, 15935 Da, 15200 Da, 14470 Da, 14300 Da, 14100 Da, 14030 Da, 13870 Da, 13747 Da, 11987 Da, 11723 Da, 11700 Da, 11650 Da, 11550 Da, 11500 Da, 11080 Da, 10830 Da, 9950 Da, 9140 Da, 8930 Da, 7469 Da, 6850 Da, 6125 Da, 6110 Da, 6090 Da, 5905 Da, 5920 Da, 5906 Da, 5900 Da, 5871 Da, 5857 Da, 5540 Da, 5330 Da, 5266 Da, 5260 Da, 5234 Da, 4977 Da, 4480 Da, 4460 Da, 4281 Da, 4270 Da, 4266 Da, 4264 Da, 4136 Da, 4039 Da, 4024 Da, 3895 Da, 3882 Da, 3878 Da, 3712 Da, 3651 Da, 3570 Da, 3574 Da, 3487 Da, 3480 Da, 3450 Da, 3444 Da, 3408 Da, 3372 Da, 3275 Da, 2960 Da, 2955 Da, 2933 Da, 2878 Da, 2850 Da, 2840 Da, 2799 Da, 2693 Da, 2462 Da, 2364 Da, and 1688 Da is increased.

13. A method according to any of claims 7-12, wherein the intensity signal for at least one  
35 of the markers 66800 Da, 66500 Da, 66300 Da, 64860 Da, 46000 Da, 45500 Da, 44300 Da, 28040 Da, 28025 Da, 28010 Da, 28000 Da, 27700 Da, 15580 Da, 15140 Da, 13700 Da, 13331 Da, 13265 Da, 12000 Da, 11989 Da, 11133 Da, 9700 Da, 9600 Da, 9197 Da, 9090 Da, 9079 Da, 8971 Da, 8940 Da, 8931 Da, 8652 Da, 8580 Da, 8230 Da, 7324 Da, 7023 Da, 6880 Da, 6660 Da, 6650 Da, 6635 Da, 6450 Da, 6436 Da, 6435 Da, 6430 Da,

5360 Da, 5075 Da, 4749 Da, 4660 Da, 4640 Da, 4634 Da, 4500 Da, 4480 Da, 4330 Da, 4300 Da, 4290 Da, 4168 Da, 4000 Da, 3984 Da, 3980 Da, 3960 Da, 3816 Da, 3777 Da, 3680 Da, 3280 Da, 3160 Da, 2450 Da, 2330 Da, 2275 Da, 2230 Da, 2210, 1945 Da, 1930 Da 1536 Da, 1365 Da, 1256 Da, 1042 Da, 1026 Da, and 1005 Da is decreased.

5

14. A method according to any of claims 7-13, wherein the sample is selected from the group consisting of blood, serum, plasma and a tissue sample

15. A method of diagnosing colorectal cancer by means of a sample from a mammal, the  
10 method comprising

obtaining a serum sample from said mammal

15 assaying said sample by a quantitative detection assay and determining the intensity signal of at least one marker selected from the group consisting of the polypeptides having apparent molecular weights of

66500 Da, 60500 Da, 46000 Da, 45500 Da, 44300 Da, 28040 Da, 27700 Da, 33000 Da, 19900 Da, 16150 Da, 15935 Da, 15580 Da, 15200 Da, 15200 Da, 13700 Da, 11900 Da,  
20 11700 Da, 11650 Da, 11550 Da, 11500 Da, 11080 Da, 10830 Da, 9140 Da, 8940 Da, 8930 Da, 8230 Da, 6880 Da, 6650 Da, 6660 Da, 6450 Da, 6430 Da, 6125 Da, 6110 Da, 6090 Da, 5920 Da, 5900 Da, 5540 Da, 5330 Da, 5260 Da, 4660 Da, 4640 Da, 4460 Da, 4330 Da, 4300 Da, 4290 Da, 4000 Da, 3980 Da, 3960 Da, 3680 Da, 3280 Da, 3275 Da, Da, 3160 Da, 2955 Da, 2450 Da, and 1536 Da,

25

comparing said intensity signal(s) with reference value(s)

Identifying whether the intensity signal of at least one marker from the sample is significantly different from the reference value for said marker.

30

16. A method of diagnosing colorectal cancer in a sample from a mammal, the method comprising

obtaining a tissue sample from said mammal

35

assaying said sample by a quantitative detection assay and determining the intensity signal of at least one marker selected from the group consisting of the polypeptides having apparent molecular weights of

15140 Da, 11989 Da, 11987 Da, 9700 Da, 9600 Da, 9197 Da, 9079 Da,  
 8971 Da, 8652 Da, 8580 Da, 7324 Da, 7023 Da, 5871 Da, 5857 Da, 5360  
 Da, 5234 Da, 5075 Da, 4749 Da, 4634 Da, 4281 Da, 4266 Da, 4168 Da,  
 4039 Da, 4024 Da, 3984 Da, 3878 Da, 3777 Da, 3712 Da, 3651 Da, 3574  
 5 Da, 3487 Da, 3444 Da, 3408 Da, 3372 Da, 2933 Da, 2878 Da, 2840 Da,  
 2799 Da, 2693 Da, 2462 Da, 2364 Da, 2330 Da, 1930 Da, 1688 Da, 1365  
 Da, 1256 Da, 1042 Da, 1026 Da, and 1005 Da

10 comparing said intensity signal(s) with reference value(s)

identifying whether the intensity signal of at least one marker from the sample is  
 significantly different from the reference value for said marker.

17. A method of diagnosing colorectal cancer in a sample from a mammal, the method  
 15 comprising

obtaining a plasma sample from said mammal

20 assaying said sample by a quantitative detection assay and determining the  
 intensity signal of at least one marker selected from the group consisting of the  
 polypeptides having apparent molecular weights of

25 66800 Da, 66500 Da, 66300 Da, 64860 Da, 60730 Da, 60475 Da, 19966  
 Da, 19865 Da, 14470 Da, 14300 Da, 14100 Da, 14030 Da, 13870 Da,  
 13747 Da, 11723 Da, 9950 Da, 8931 Da, 7469 Da, 6635 Da, 6435 Da,  
 5905 Da, 5266 Da, 4977 Da, 4480 Da, 4136 Da, and 3895 Da,

comparing said intensity signal(s) with reference value(s)

30 identifying whether the intensity signal of at least one marker from the sample is  
 significantly different from the reference value for said marker.

18. A method according to any of claims 7-17, wherein the intensity signal for at least one  
 of the markers 60500 Da, 19900 Da, 11080 Da, 10830 Da, 9140 Da, 8930 Da, 6110 Da,  
 35 6090 Da, 5920 Da, 5900 Da, 5540 Da, 5330 Da, 5260 Da, 4460 Da and 2960 Da is  
 increased and the intensity signal for at least one of markers 66500 Da, 44300 Da, 28040  
 Da, 27700 Da, 15580 Da, 13700 Da, 6880 Da, 6660 Da, 6430 Da, 4660 Da, 4640 Da,  
 4330 Da, 4300 Da, 4290 Da, 4000 Da, 3980 Da, 3960 Da, 3680 Da, 3280 Da, and 3160  
 Da is decreased when assaying a serum sample on IMAC30 chip (CIPHERGEN).



19. A method according to any of claims 7-18, wherein the intensity signal for at least one of the markers 11900 Da, 11700 Da, 11650 Da, 11550 Da and 11500 Da is increased and the intensity signal for at least one of the markers 46000 Da, 45500 Da, 8940 Da, 8230  
5 Da, 6650 Da, and 6450 Da is decreased when assaying a serum sample on H50 protein chip.

20. A method according to any of claims 7-19, wherein the intensity signal for at least one of the markers 15200 Da, 6125 Da, 5900 Da, 3275 Da and 2955 Da is increased and the  
10 intensity signal for at least one of the markers 4290 Da, 2450 Da, and 1536 Da is decreased when assaying a serum sample on CM10 protein chip.

21. A method according to any of claims 7-20, wherein the intensity signal for at least one of the markers 33000 Da, 16150 Da, 15935 Da, and 15200 Da is increased when assaying  
15 a serum sample on Sax2protein chip.

22. A method according to any of claims 7-21, wherein the intensity signal for at least one of the markers 5857 Da, 4264 Da, 3878 Da, 3712 Da, 3651 Da, 3574 Da, 3487 Da, 3444 Da, 3372 Da and 1688 Da is increased and the intensity signal for at least one of the  
20 markers 9700 Da, 8652 Da, 8652 Da, 8580 Da, 7023 Da, 5360 Da, 4168 Da, 1365 Da, 1256 Da, 1042 Da, 1026 Da, and 1005 Da is decreased when assaying a tissue sample on NP20 protein chip.

23. A method according to any of claims 7-22, wherein the intensity signal for at least one  
25 of the markers 11987 Da, 5871 Da, 5234 Da, 4281 Da, 4266 Da, 4039 Da, 4024 Da, 3408 Da, 2933 Da, 2878 Da, 2840 Da, 2799 Da, 2693 Da, 2462 Da, and 2364 Da is increased and the intensity signal for at least one of the markers 15140 Da, 11989 Da, 9600 Da, 9197 Da, 9079 Da, 8971 Da, 7324 Da, 5075 Da, 4749 Da, 4634 Da, 3984 Da, 3777 Da, 2330 Da, and 1930 Da is decreased when assaying a tissue sample on Sax2protein chip.  
30

24. A method according to claim 7, wherein the intensity signal(s) for at least one of the markers 5340 Da and 5906 Da is/are increased and the intensity signal(s) for at least one of the markers 3980 Da, 6880 Da, and 28010 is/are decreased when assaying a serum sample on a IMac30 chip.

35

25. A method of diagnosing colorectal cancer by means of a sample from a mammal, the method comprising

- a) preparing a normalized protein expression data set from the sample, wherein the expression data set comprises a plurality of expression intensities of proteins on at least one protein chip,
- 5 b) selecting one marker from the normalized protein expression data set obtained in a), from the group consisting of the polypeptides having apparent molecular weight of
- 66800 Da, 66500 Da, 66300 Da, 64860 Da, 60730 Da, 60500 Da, 60475 Da, 46000 Da,  
 10 45500 Da, 44300 Da, 33000 Da, 28040 Da, 28025 Da, 28010 Da, 28000 Da, 27700 Da, 19966 Da, 19900 Da, 19865 Da, 16150 Da, 15935 Da, 15580 Da, 15200 Da, 15140 Da, 14470 Da, 14300 Da, 14100 Da, 14030 Da, 13870 Da, 13747 Da, 11723 Da, 13700 Da, 13331 Da, 13265 Da, 12000 Da, 11989 Da, 11987 Da, 11900 Da, 11700 Da, 11650 Da, 11550 Da, 11500 Da, 11133 Da, 11080 Da, 10830 Da, 9950 Da, 9700 Da, 9600 Da, 9197  
 15 Da, 9140 Da, 9090 Da, 9079 Da, 8971 Da, 8940 Da, 8931 Da, 8930 Da, 8652 Da, 8580 Da, 8230 Da, 7469 Da, 7324 Da, 7023 Da, 6880 Da, 6850 Da, 6660 Da, 6650 Da, 6635 Da, 6450 Da, 6436 Da, 6435 Da, 6430 Da, 6125 Da, 6110 Da, 6090 Da, 5920 Da, 5906 Da, 5905 Da, 5900 Da, 5871 Da, 5857 Da, 5540 Da, 5360 Da, 5330 Da, 5266 Da, 5260 Da, 5234 Da, 5075 Da, 4977 Da, 4749 Da, 4660 Da, 4640 Da, 4634 Da, 4500 Da, 4480  
 20 Da, 4460 Da, 4330 Da, 4300 Da, 4290 Da, 4281 Da, 4270 Da, 4266 Da, 4264 Da, 4168 Da, 4136 Da, 4039 Da, 4024 Da, 4000 Da, 3984 Da, 3980 Da, 3960 Da, 3895 Da, 3882 Da, 3878 Da, 3816 Da, 3777 Da, 3712 Da, 3680 Da, 3651 Da, 3574 Da, 3570 Da (def 2), 3487 Da, 3480 Da (def 3), 3450 Da (def 1), 3444 Da, 3408 Da, 3372 Da, 3280, 3275 Da, Da, 3160, Da, 2960 Da, 2955 Da, 2933 Da, 2878 Da, 2850 Da, 2840 Da, 2799 Da, 2693  
 25 Da, 2462 Da, 2450 Da, 2364 Da, 2330 Da, 2275 Da, 2230 Da, 2210 Da, 1945 Da, 1930 Da, 1688 Da, 1536 Da, 1365 Da, 1256 Da, 1042 Da, 1026 Da, and 1005 Da,
- c) setting a weight for said marker
- 30 d) multiplying the intensity of said marker with the weight of said marker
- e) repeating steps b) - d) for a number of markers and calculating the sum of the multiplications
- 35 f) comparing the sum with a cut-off value
- g) readjusting the weight for each marker for obtaining the highest sensitivity and specificity.

26. A method according to claim 25, wherein the weight for each marker is determined/set by a number between -0.9 and +0.9, that number resulting in the highest sensitivity and specificity.

5 27. A method according to claim 25, wherein the determination is based on the following algorithm:

10 Give the selected markers weights between -0.9 and 0.9, i.e. marker A, weight a, marker B, weight b, marker C, weight c, marker D, weight d and marker N, weight n;

get intensities of A, B, C, D,..N markers in the following order: A m/z, B m/z, C m/z, D m/z, N .. m/z;

15 multiply the first intensity with weight a;  
multiply the second intensity with weight b;  
multiply the third intensity with weight c;  
multiply the fourth intensity with weight d;  
multiply the n intensities with weight n; and  
20 calculate the sum of the above multiplications;

if sum lower than cutoff value => sample is negative for colon cancer, and  
if sum higher than cutoff value => sample is positive for colon cancer.

25 28. A computer system for monitoring the likelihood of a mammal having colorectal cancer, the computer system comprising:

- a) storage means for electronically storing data,
- 30 b) processing means for storing input data from a mass spectrometer,
- b) input means for interfacing between an mass spectrometer and the computer system, and
- 35 d) an interface between a user and the computer system,

wherein the processing means determines the likelihood of colorectal cancer by applying the following algorithm:



Give the selected markers weights between -0.9 and 0.9, i.e. marker A, weight a, marker B, weight b, marker C, weight c, marker D, weight d and marker N, weight n;

- 5        get intensities of A, B, C, D,..N markers in the following order: A m/z, B m/z, C m/z, D m/z, N .. m/z;
- multiply the first intensity with weight a;
  - multiply the second intensity with weight b;
  - 10       multiply the third intensity with weight c;
  - multiply the fourth intensity with weight d;
  - multiply the n intensities with weight n; and
  - calculate the sum of the above multiplications;
- 15       if sum lower than cutoff value => sample is negative for colon cancer, and  
if sum higher than cutoff value => sample is positive for colon cancer.
29. A kit comprising:
  - a first antibody including a portion bound to a solid phase and a region which
  - 20       specifically binds to alpha-fetoprotein,
  - a second antibody including a region which specifically binds to alpha-fetoprotein and a portion which has a label, and
  - optionally a reference protein.
- 25       30. A kit comprising:
  - a first antibody including a portion bound to a solid phase and a region which specifically binds to alpha-fibrinogen,
  - a second antibody including a region which specifically binds to alpha-fibrinogen and a portion which has a label, and
  - 30       - optionally a reference protein.
31. A kit comprising:
  - a first antibody including a portion bound to a solid phase and a region which specifically binds to human serum albumin (HSA) or fragments of HSA,
  - 35       - a second antibody including a region which specifically binds to human serum albumin (HSA) or fragments of HSA and a portion which has a label, and
  - optionally a reference protein.

32. A kit according to claims 29-31, wherein a combination of two or more of the proteins are detected.